

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
4. August 2005 (04.08.2005)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 2005/070952 A1

(51) Internationale Patentklassifikation⁷: **C07J 51/00**,
A61K 31/575, A61P 39/04, C23F 11/167, A61K 9/127

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/DE2005/000095

(22) Internationales Anmeldedatum:
24. Januar 2005 (24.01.2005)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:
10 2004 003 781.7 23. Januar 2004 (23.01.2004) DE

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme
von US): **MCS MICRO CARRIER SYSTEMS GMBH**
[DE/DE]; Stresemannallee 6, 41460 Neuss (DE).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): **GREB, Wolfgang**
[DE/DE]; Am Fronberg 11, 40489 Düsseldorf (DE).
SHYHSKOV, Oleg [UA/DE]; Amelinghauser Strasse
19A, 28329 Bremen (DE). **RÖSCHENTHALER,**
Gerd-Volker [DE/DE]; Meldenweg 19, 28357 Bremen
(DE). **HENGST, Verena** [DE/DE]; Pionierstrasse 4,
40215 Düsseldorf (DE).

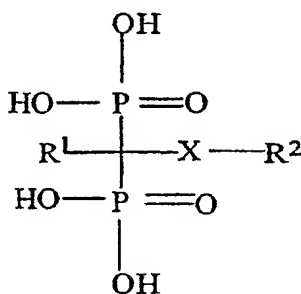
(74) Anwalt: **CHRISTOPHERSEN & PARTNER**; Feld-
strasse 73, 40479 Düsseldorf (DE).

(81) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für
jede verfügbare nationale Schutzrechtsart): AE, AG, AL,
AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH,
CN, CO, CR, CU, CZ, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI,
GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE,

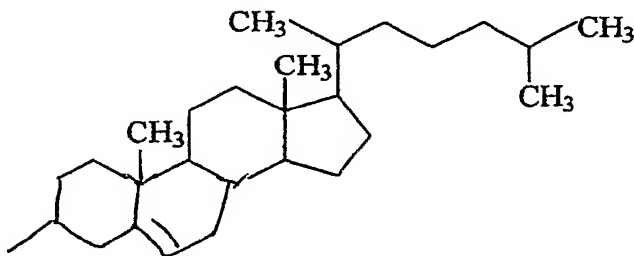
[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

(54) Title: LIPID- DERIVATIZED BISPHOSPHONIC ACID

(54) Bezeichnung: LIPID- DERIVATISIERTE BISPHOSPHONSÄURE



(I)



(II)

(57) **Abstract:** Disclosed is a bisphosphonic acid derivative of general formula (I), wherein R¹ represents H, OH, C₁-C₆ alkyl, C₁-C₆ alkoxy, C₁-C₆ hydroxyalkyl, C₁-C₆ aminoalkyl, C₁-C₆ haloalkyl, X represents a direct bond, alkylene group comprising 1 to 20 carbon atoms, (CH₃)_m-(OCR³HCH₂)_n-(O)<SB>O</SB>, wherein R³ represents H or CH₃ while m represents 0 or a number from 1 to 6, n represents a number from 1 to 10, especially 1 to 6, and o represents 0 or 1, -(CR⁴HCH₂O)_p-, wherein R⁴ represents H or CH₃, p represents a number from 1 to 10, particularly 1 to 6, (CH₃)_q-(OCR⁵HCH₂)_r-(O)_s-(CH₃)_t-, wherein R⁵ represents H or CH₃ while q represents 0 or a number from 1 to 6, r represents a number from 1 to 10, especially 1 to 6, s represents 0 or 1, and t represents a number from 1 to 6, and R² represents a radical of formula (II) or a fatty alkyl radical or fatty acid radical comprising 8 to 22 carbon atoms. The inventive compound can be used for producing liposomal preparations as well as medicaments utilized for the treatment of animals and humans.

(57) **Zusammenfassung:** Es wird ein Bisphosphonsäure-Derivat mit der allgemeinen Formel (I) beansprucht (I) worin R¹ ist H, OH, C₁-C₆-Alkyl, C₁-C₆-Alkoxy, C₁-C₆-Hydroxyalkyl, C₁-C₆-Aminoalkyl, C₁-C₆-Halogenalkyl ist, X ist eine direkte Bindung, Alkylengruppe mit 1 bis 20 Kohlenstoffatomen, (CH₃)_m (OCR³HCH₂)_n-(O)_o-, worin R³ H oder CH₃ bedeutet und m für 0 oder eine Zahl von 1 bis 6, n für eine Zahl von 1 bis 10, insbesondere 1 bis 6, und o für 0 oder 1 steht, -(CR⁴HCH₂O)_p-, worin R⁴ H oder CH₃ bedeutet, p für eine Zahl von 1 bis 10, insbesondere 1 bis 6, steht, (CH₃)_q-(OCR⁵HCH₂)_r-(O)_s-(CH₃)_t-, worin R⁵ H oder CH₃ bedeutet, und q für 0 oder eine Zahl von 1 bis 6, r für eine Zahl von 1 bis 10, insbesondere 1 bis 6 und s für 0 oder 1 und t für eine Zahl von 1 bis 6 steht, und R² ein Rest mit der Formel (II) ist (II) oder ein Fettalkylrest oder Fettsäurerest mit 8 bis 22 Kohlenstoffatomen. Die beanspruchte Verbindung kann zur Herstellung liposomaler Zubereitungen und zur Herstellung von Medikamenten, die zur Behandlung von Tieren und Menschen verwendet werden, eingesetzt werden.

WO 2005/070952 A1



KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Erklärung gemäß Regel 4.17:

— *Erfindererklärung (Regel 4.17 Ziffer iv) nur für US*

Veröffentlicht:

— *mit internationalem Recherchenbericht*

(84) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für jede verfügbare regionale Schutzrechtsart): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasisches (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, MC, NL,

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.

LIPID-DERIVATISIERTE BISPHOSPHONSÄURE DERIVATE

Die vorliegende Erfindung betrifft Cholesteryl-3-hydroxy-bisphosphonsäureverbindungen und deren löslichen Salze oder Hydrate und pharmakologisch wirksame Konjugate, ein Verfahren zu ihrer Herstellung sowie deren Verwendung zur Behandlung von Erkrankungen.

Hintergrund

Phosphonsäure-Derivate und ihre technische Anwendung

Phosphonsäuren sind organische Bestandteile, die eine oder mehrere $C-PO(OH)_2$ -Gruppe(n) mit stabilen, kovalenten Kohlenstoff-Phosphor-Bindungen aufweisen. Phosphonate sind effektive Chelat-Komplexbildner für di- und trivalente Metallionen. Die meisten Phosphonate sind den Aminocarboxylaten, wie EDTA, NTA und DTPA, sehr ähnlich. Außerdem inhibieren sie auch sehr wirksam Kristallwachstum und Korrosion.

Aufgrund dieser Eigenschaften werden sie bei zahlreichen technischen und industriellen Anwendungen eingesetzt. Ein wichtiger Einsatz in der Industrie ist ihr Gebrauch in Kühlwasser, Entsalzungssystemen und auf Ölfeldern, um die Korrosion zu inhibieren. Sowohl in der Textilindustrie als auch in der Papier- und Zellstoff-Herstellung werden Phosphonate als Stabilisatoren für Bleichmittel verwendet, indem sie als Chelat-Komplexbildner fungieren, die das Peroxid inaktivieren können. Ein Beispiel aus der Umwelt für den Gebrauch von Phosphonaten ist das Glyphosat (N-Phosphonomethylglycin), ein nicht-selektives Herbizid, welches das Pflanzenwachstum durch die Hemmung einer biochemischen Kaskade kontrolliert.

Polyphosphate stellen Polymere (Kondensationsprodukte) von Orthophosphat-Resten dar, die durch energiereiche Phosphoanhydrid-Bindungen (Sauerstoff-Brücken) gebunden sind. Polyphosphat (PolyP) wird im menschlichen Körper synthetisiert und ist in fast allen Zellen vorzufinden. Der größte Anteil an PolyP ist in den knochenbildenden Osteoblasten anzutreffen. PolyP hat viele Funktionen, abhängig davon, welcher Körperabschnitt in Betracht gezogen wird. Es speichert energiereiches Phosphat, komplexierendes Calcium oder andere divalente Kationen, es fungiert als Gegenion für basische Aminosäuren oder als Regulator des intrazellulären Spiegels von Adenylatnucleotiden.

PolyP wird häufig in Zahnpasten verwendet, weil angenommen wird, dass es die Kariesbildung verhindert was zurückgeführt wird auf die Fähigkeit, Hydroxylapatit mineralisieren zu können und sowohl dessen Azidität als auch dessen Löslichkeit verringern zu können.

Die Gruppe der Bisphosphonate wird zur Behandlung von verschiedenen Knochenerkrankungen und Erkrankungen, die den Calcium-Metabolismus betreffen, eingesetzt.

Bisphosphonate sind Pyrophosphat-Analoga, bei denen die Sauerstoffbrücke durch ein Kohlenstoffatom mit variierenden Seitenketten ersetzt wird. Die P-C-P Gruppe ist gegenüber enzymatischer Hydrolyse resistent, aus diesem Grund werden Bisphosphonate nicht im Körper metabolisiert. Bisphosphonate können in drei Generationen eingeteilt werden. Sie unterscheiden sich in der Substitution des Wasserstoffes durch verschiedene Seitenketten an zwei möglichen Positionen im Molekül. Alkyl-Seitenketten (z.B. Etidronat) charakterisieren die erste Generation. Die zweite Generation der Bisphosphonate umfasst die Amino-Bisphosphonate mit einer terminalen Aminogruppe (z.B. Alendronat). Seitenketten, die Ringe aufweisen, sind typisch für die dritte Generation (z.B. Zolendronat).

Medizinische Anwendungen von Phosphonaten

In der Knochen-Szintigraphie werden Phosphonate als Diagnostika eingesetzt. Einige verschieden markierte Phosphonate, wie z.B. ^{99m}TC -markierte Phosphonate oder ^{188}Re -Komplexe werden als radioaktive Marker verwendet, um im Skelett das Vorhandensein, den Ort und das Ausmaß von Krankheiten, wie Osteomyelitis, Knochen-Neoplasien, Arthritis oder von Knocheninfarkten darzustellen.

Die wichtigste pharmakologische Wirkung von Bisphosphonaten ist die Hemmung der Knochenresorption. Sie haben wie das Pyrophosphat eine hohe Affinität zum Hydroxylapatit, dem Hauptbestandteil vom Knochen, und verhindern sowohl dessen Wachstum als auch dessen Auflösung. Ausserdem inaktivieren sie knochenabbauende Zellen, Osteoklasten genannt, indem sie ihre Apoptosis herbeiführen. Normalerweise arbeiten die Osteoklasten mit den knochenaufbauenden Zellen, den Osteoblasten, zusammen, um den bestehenden Knochen wieder aufzubauen. Sie visieren Knochenareale an, die eine hohe Osteoklastenaktivität aufweisen und sie tragen dazu bei, dass das normale Verhältnis zwischen Osteoblasten- und Osteoklasten-Aktivität wiederhergestellt wird.

Bisphosphonate kommen in der Therapie von Knochenkrankheiten zum Einsatz, zumeist bei Morbus Paget, Hypercalcämie, Osteoporose und Neoplasien.

Ein weiterer Vorteil dieser Gruppe ist, dass sie die Apoptose von Tumorzellen bewirken können. Deshalb spielen sie in der Krebstherapie eine große Rolle (z.B. bei Brustkrebs, bei Metastasen, bedingt durch Prostatakrebs, oder beim Multiplen Myelom).

Derivate, die aus acyclischen nucleosidischen Phosphonaten bestehen (z.B. Zidovovir oder Tenofovir) sind wirksam gegen eine große Vielfalt von DNA-Viren und Retroviren verursachte Erkrankungen. Acyclische nucleosidische Phosphonate (ANPs) sind Analoga, bei denen ein Phosphonat über eine aliphatische Kette durch eine Etherbindung an ein Purin oder ein Pyrimidin gebunden ist. Sobald diese Analoga in der Zelle phosphoryliert werden, konkurrieren sie mit den natürlich vorkommenden Nukleotiden bei der Nukleinsäure Synthese, folglich wird die Virusreplikation in den infizierten Zellen herabgesetzt oder verhindert.

Die antivirale Wirksamkeit von ANPs wird auch in der Tiermedizin ausgenutzt. Sie sind potente Inhibitoren des Feline Immunodeficiency Virus (FIV). FIV ähnelt dem HI-Virus in Bezug auf morphologische, physikalische und biochemische Eigenschaften.

Zielgerichtete Applikation von Wirkstoffen / zielgerichtete Liganden

Aufgrund der außergewöhnlichen Affinität der Bisphosphonate zu Hydroxylapatit wurde auch ihre Eignung für die zielgerichtete Applikation von pharmakologisch wirksamen Substanzen am Knochen untersucht. Ein Beispiel dafür ist die Verbindung von dem Bisphosphonat, welches eine hohe Affinität zum Knochen aufweist, und Wachstumsfaktoren (z.B. Bovines Serum Albumin), die die Fähigkeit besitzen, das Knochenwachstum zu stimulieren. Radioisotope, antineoplastische Wirkstoffe und anti-inflammatorische Substanzen sind auch bereits an diese zielgerichteten Liganden gebunden worden

Der Ausdruck „zielgerichtete Wirkstoff-Applikation“, umfasst Substanzen, die eine zeitkontrollierte Abgabe, eine organspezifische Applikation, Schutz, verlängerte in vivo Wirkung und eine Abnahme der Toxizität der Wirkstoffe ermöglichen. Viele Trägersysteme, wie z.B. Polymere, Nanopartikel, Mikrosphären, Mizellen, Protein-Trägersysteme, DNA-Komplexe, wie auch Liposomen, sind angewendet worden, um die Zirkulationszeit von verschiedenen Molekülen zu verlängern, um sie an die gewünschten Wirkorte zu bringen, und um sie vor dem Abbau im Plasma zu schützen. Liposomen wurden bisher als Wirkstoffträger sehr vielseitig eingesetzt. Sie weisen kolloide, vesikuläre Strukturen auf der

Basis von (Phospho)-Lipid-Doppelmembranen auf. Wegen dieser strukturellen Eigenschaften können sie sowohl hydrophile als auch hydrophobe Moleküle einlagern. Außerdem sind Liposomen bioabbaubar und im Wesentlichen ungiftig, da sie aus natürlichen Biomolekülen bestehen.

Ein limitierender Faktor der Liposomen als Wirkstoffträger stellt ihre Zersetzung durch Makrophagen (Kupfer-Zellen) in der Leber und der Milz direkt nach intravenöser Gabe dar. Die Geschwindigkeit und der Umfang ihrer Aufnahme ist abhängig von der Membran-Rigidität, der Liposomen- Größe und der Dosis. Eine Modifikation der Liposomenoberfläche kann den unerwünschten Abbau durch Makrophagen vermindern. Durch das Anbinden von PEG-Einheiten an die äußere Membran kann die Zirkulationszeit deutlich erhöht werden (langzirkulierende Liposomen). Alternativ können auch zielgerichtete Moleküle (homing molecules) an die Liposomdoppelschichten angeheftet werden, um diese Strukturen spezifisch für den Wirkort zu machen, z.B. Immunoliposomen (Liposomen, die an ihrer Oberfläche kovalentgebundene Antikörper als zielgerichteten Liganden aufweisen), diese können auch mit langzirkulierenden Eigenschaft ausgestattet sein.

Passive zielgerichtete Applikation

Langzirkulierende Liposomen haben die Tendenz, in Geweben zu akkumulieren, welche ein durchlässiges Endothelium aufzeigen. Diese „passiven Eigenschaften der zielgerichteten Applikation,“ sind sehr nützlich für die zielgerichtete Applikation an Tumorgeweben, da die Anordnung der Blutgefäße der meisten Tumore ausreichend durchlässig für Liposomen ist. Da außerdem das lymphatische Gewebe in Tumoren zumeist nicht voll entwickelt ist, neigen die extravasierten Liposomen dazu, im Zwischenraum der Tumorgewebe zu bleiben.

Langzirkulierende Liposomen wurden häufig als Träger für Krebstherapeutika eingesetzt, wie z.B. Doxorubicin, Cisplatin, Vincristine und Camphotecin.

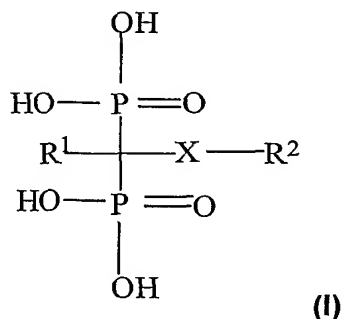
Cholesterol

Cholesterol ist von der Struktur hergesehen ein wichtiger Bestandteil von Zellmembranen. Es beeinflusst die physikalischen Eigenschaften der Membran, insbesondere ihre Fluidität. Es wird sehr häufig in der Pharmazeutischen Industrie eingesetzt, insbesondere als Bestandteil von Liposomen. Cholesterol hat die Eigenschaft Membranen steifer zu machen. Der Zusatz von Cholesterol überführt die Membran in einen geordneten, fluiden Zustand über einen großen Temperaturbereich. Außerdem wurde der Gebrauch neusynthetisierter Cholesterolderivate schon sehr früh untersucht.

- 5 -

Die zuvor beschriebenen Komponenten zeigen eine Vielzahl von positive Eigenschaften bei der Behandlung der genannten Erkrankungen sowie bei der Applikation von Wirkstoffen.

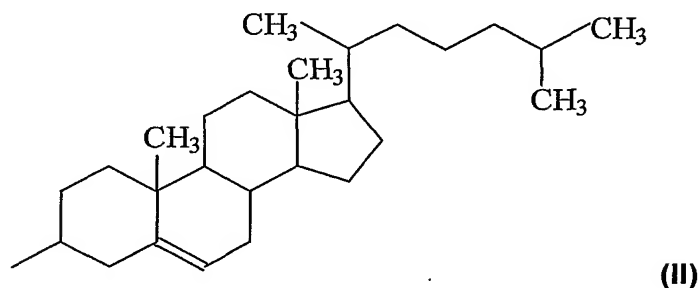
Gegenstand der vorliegenden Erfindung sind Bisphosphonsäuren und Derivate davon mit der folgenden Formel (I)



worin R^1 ist H, OH, C_1 - C_6 -Alkyl, C_1 - C_6 -Alkoxy, C_1 - C_6 -Hydroxyalkyl, C_1 - C_6 -Aminoalkyl, C_1 - C_6 -Halogenalkyl ist,

X ist eine direkte Bindung, Alkylengruppe mit 1 bis 20 Kohlenstoffatomen, $(\text{CH}_3)_m - (\text{OCR}^3\text{HCH}_2)_n - (\text{O})_o -$, worin R^3 H oder CH_3 bedeutet und m für 0 oder eine Zahl von 1 bis 6, n für eine Zahl von 1 bis 10, insbesondere 1 bis 6, und o für 0 oder 1 steht, $-(\text{CR}^4\text{HCH}_2\text{O})_p -$, worin R^4 H oder CH_3 bedeutet, p für eine Zahl von 1 bis 10, insbesondere 1 bis 6, steht, $(\text{CH}_3)_q - (\text{OCR}^5\text{HCH}_2)_r - (\text{O})_s - (\text{CH}_3)_t -$, worin R^5 H oder CH_3 bedeutet, und q für 0 oder eine Zahl von 1 bis 6, r für eine Zahl von 1 bis 10, insbesondere 1 bis 6 und s für 0 oder 1 und t für eine Zahl von 1 bis 6 steht,

R^2 ist ein Rest mit der Formel (II)



oder ein Fettalkylrest oder ein Fettsäurerest mit 8 bis 22 Kohlenstoffatomen,

sowie deren physiologisch annehmbaren Derivate, insbesondere Salze und Trimethylsilylderivate.

Die erfindungsgemäßen Verbindungen eignen sich insbesondere zur Herstellung liposomaler Zubereitungen und zur Herstellung von Medikamenten, die zur Behandlung von Tieren und Menschen verwendet werden können, eingesetzt werden.

Die erfindungsgemäßen Bisphosphonsäureverbindungen können in Form ihrer Säuren aber auch als Salze oder Trimethylsilyl-Derivate vorliegen. In den Trimethylsilylderivaten ist wenigstens eine der OH-Gruppen am P durch eine Trimethylsilylgruppe ersetzt. Als Salze kommen alle physiologisch verträglichen Salze in Betracht, insbesondere die Alkali-, Erdalkali- und Ammoniumsalze.

Besonders bevorzugt sind solche Verbindungen mit der Formel (I) in denen R^1 OH und R^2 ein Rest mit der allgemeinen Formel (II) (d.h. Cholesteryl-3-hydroxy-bisphosphonsäure) ist, ihre löslichen Salze davon, mit oder ohne Spacer-Molekül. Ist der Rest R^2 ein Fettalkylrest, ist dieser bevorzugt ausgewählt aus Fettalkylresten mit 12 bis 18 Kohlenstoffatomen, wie einem Rest der sich von Dodecancarbonsäure oder Palmitinsäure ableitet, d.h. die Verbindungen mit der Formel I (Do)-decanbisphosphonsäure oder Palmitylbisphosphonsäure sind.

Die erfindungsgemäßen Verbindungen zeichnen sich durch eine Vielzahl von Anwendungsmöglichkeiten aus, wie z. B. als Chelat-Komplexbildner für di- und trivalente Metallionen in technischen und industriellen Anwendungen, als Korrosionsschutzmittel in technischen und industriellen Anwendungen, als pharmazeutischer Wirkstoff, als Hilfsmittel für den Wirkstofftransport oder als Diagnostikum.

Die pharmazeutisch/pharmakologisch aktiven Substanzen können aus beliebigen Wirkstoffen ausgewählt sein, wie Krebstherapeutika, Virustatika, Antibiotika, antimykotische, antiinflammatorische, das Knochengewebe stimulierende oder das Knochengewebe unterdrückende Substanzen, wobei diese Aufzählung nicht abschließend ist. Als Antibiotika können insbesondere Aminoglykoside, Penicilline, Cephalosporine, Tetracycline, Makrolide, Lincosamide, Fluoroquinolone, Streptogramine, Nitroimidazole, Azole, Polyene, Polypeptid-Antibiotika, antibiotische Oligonukleotide, insbesondere Gentamycin, Amikacin oder Tobramycin, Nafcillin oder Piperacillin, Cefepim oder Cefuroxim, Tetracyclin oder Doxycyclin, Erythromycin, Clarithromycin oder Azithromycin, Klindamycin, Ciprofloxacin oder Moxifloxacin, Dalfopristin oder Quinupristin, Metronidazol, Miconazol oder Ketoconazol,

- 7 -

Amphotericin B, Vancomycin oder Bacitracin genannt werden. Als Beispiele für Krebstherapeutika können Folsäureantagonisten, Alkylantien, Antimetabolite, Purinantagonisten, Pyrimidinantagonisten, Pflanzenalkaloide, Anthracycline, Hormonantagonisten, Aromataseinhibitoren, Bisphosphonate oder Antisense Oligonukleotide genannt werden.

Weitere Gruppe pharmazeutisch wirksame Substanzen können ausgewählt werden aus Sulfamethoxazol oder Sulfadiazin, Cisplatin oder Procarbazin, Methotrexat, Mercaptopurin, Fluorouracil oder Cytarabin, Vinblastin, Vincristin, Etoposid oder Paclitaxel, Doxorubicin, Epirubicin, Pirarubicin, oder Daunorubicin, Goserelin oder Aminoglutethimid, Etidronat, Pamidronat, Risedronat oder Clodronat.

In einer weiteren Ausführungsform werden die erfindungsgemäßen Bisphosphonsäuren in Gegenwart von sogenannten Duplexmolekülen eingesetzt, beispielsweise solchen, die aus kovalentgebundenen Fluoruracilen und Cytosinarabinsiden bestehen.

Die erfindungsgemäßen Verbindungen zeichnen sich durch eine Affinität zum Knochen auf und eignen sich daher sowohl als Hilfsmittel für den Wirkstofftransport als auch für den Transport von Diagnostika, in diesen Ausführungsformen sind die erfindungsgemäßen Verbindungen an ein aktives Agens (Wirkstoff) und/oder an ein Diagnostikum gebunden oder werden als Trägermaterialien für diese Substanzen eingesetzt. Beispiele für therapeutische Wirkstoffe sind z.B. Knochenkrebstherapeutika, die im Knochengewebe und im Knochenmark von Mensch und Tier eingesetzt werden.

In einer weiteren Ausführungsform können die erfindungsgemäßen Verbindungen und ihre Derivate als Transportmoleküle für divalente Kationen, insbesondere als zielgerichtete Liganden von Calciumionen für die Behandlung von Calcium-Metabolismus-Erkrankungen, eingesetzt werden.

Eine weitere Ausführungsform der vorliegenden Erfindung betrifft die Verwendung der erfindungsgemäßen Bisphosphonsäuren und ihrer Derivate zur Behandlung von Knochenmetastasen.

In der pharmazeutischen Anwendung werden die erfindungsgemäßen Verbindungen vorzugsweise in Kombination mit einem üblichen Trägermaterial und ggf. weiteren Hilfsmitteln eingesetzt.

Ein weiterer Gegenstand der vorliegenden Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung der Verbindungen mit der Formel I, in welchem eine Verbindung mit der Formel III, R^2 -X-COOH oder ein reaktives Derivat davon in an sich bekannter Weise mit der Bisphosphonsäure oder Tris(trimethylsilyl)phosphit umgesetzt und das erhaltene Produkte direkt isoliert oder durch Hydrolyse in die Phosphonsäure überführt wird. Die weitere Umsetzung in die physiologisch verträglichen Salze kann Umsetzung mit geeigneten Basen erfolgen.

In einer weiteren Ausgestaltung der vorliegenden Erfindung werden die erfindungsgemäßen Verbindungen mit der Formel I in einer Zusammensetzung in Gegenwart von geeigneten Konjugaten eingesetzt. Die Konjugate können ausgewählt sind aus Liposomen, Nanopartikeln, Nanospheres, Nanokapseln, Mizellen oder Polymersystemen. Vorzugsweise werden die Verbindungen der allgemeinen Formel (I) oder ihre Derivate in Kombination mit einer Mischung von Phospholipiden, einschließlich einem Uronsäure-Derivat als Ummantelungsmaterial oder einem anderen Ummantelungsmaterial, verwendet, wobei Menge, Art und Konzentration der einzelnen Bestandteile beliebig und in Abhängigkeit vom Anwendungszweck ausgewählt werden. Als Uronsäurederivate können z. B. Palmityl-D-glucuronid oder Galactosyl-D-glucuronid in Konzentrationen von 0,1 bis 25 mol% eingesetzt werden. In dieser Ausgestaltung ist das erfindungsgemäße Bisphosphonsäurederivat an ein langzirkulierendes Liposom gebunden, welches mit einem Uron-Säure-Derivat als Ummantelungssubstanz modifiziert ist.

Als Phospholipide kann die Zusammensetzung Phosphatidylcholin, Phosphatidylglycerol, Phosphatidylethanolamin, Phosphatidylinositol, Phosphatidylsäure, Sphingomyelin, Ceramid in ihren natürlichen, halbsynthetischen oder synthetischen Formen sowie Stearylamin und Cholesterol umfassen, wobei ein Phospholipidgemisch, das Dipalmitoylphosphatidylcholin und Dimyristoylphosphatidylglycerol enthält, besonders bevorzugt ist. Als Polymere kann die Zusammensetzung Polyvinylpyrrolidone oder Polyethylenoxide enthalten.

Diese Zusammensetzung kann auch eine oder mehrere der oben beschriebenen Aktivsubstanzen in einer beliebigen Konzentration enthalten. Diese Substanzen können ausgewählt sein aus den bereits beschriebenen pharmazeutisch wirksamen Substanzen und Diagnostika, aber auch aus Desinfektionsmitteln, Chemikalien und Magnetpartikeln.

Ein weiterer Gegenstand der vorliegenden Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung einer liposomalen Zubereitung, worin eine Rohmischung der einzelnen Bestandteile, wie Palmityl-D-glucuronid, Phospholipiden, Bisphosphonsäure(n) oder ein Derivat davon mit der

allgemeinen Formel (I) und beliebige einzelne oder Kombinationen von aktiven Substanzen durch Ultraschall, Hochdruckextrusion, oder Hochdruckhomogenisation miteinander vermischt werden. Es wird ein Liposomenprodukt erhalten, das vorzugsweise einen mittleren Partikeldurchmesser von 30 bis 1000 nm aufweist.

Die erfindungsgemäße liposomale Zusammensetzung wird vorzugsweise in eine wässrige Dispersion oder ein Lyophilisat. Diese Zubereitungen sind insbesondere zur Herstellung von pharmazeutischen Formulierungen, wie zur Injektion oder Inhalation, geeignet. Diese Formulierungen enthalten üblicherweise einen oder mehrere Aktivsubstanzen. Als Beispiele können die bereits genannten Krebstherapeutika, Antibiotika oder Antisense Oligonukleotide angeführt werden.

Ein weiterer Gegenstand der vorliegenden Anmeldung betrifft die Verwendung der erfindungsgemäßen Verbindungen mit der Formel I zur Herstellung eines Medikaments zur Behandlung von Human- und Tierkrankheiten. Die Applikation dieser Mittel kann auf intravenöse oder orale Weise oder jede beliebige andere Weise erfolgen.

Beispiele

Beispiel 1: Zubereitung von Cholesteryl-3-hydroxy-bisphosphonsäure

Cholesterylchlorid wurde über die entsprechende Grignardverbindung in die Carbonsäure überführt (Ausbeute: 35%). Dieses Produkt wird dann in Gegenwart von Oxalylchlorid in das Säurechlorid umgewandelt (Ausbeute: 95%).

6,5 g (0,015 mol) Säurechlorid wird in 150 mL THF gelöst. Unter Stickstoff wird langsam 13,4 g (0,045 mol) $P(OSiMe_3)_3$ bei 0°C zugegeben. Das Gemisch wird bei Raumtemperatur 3 h gerührt.

Danach werden 0,5 mL (0,03 mol) Wasser zugefügt und die flüchtigen Bestandteile werden im Vakuum bei 90°C abgezogen.

Der Feststoff wird in Ethylacetat gelöst und 1 h unter Rückfluss gekocht.

Dann wird abfiltriert und der verbleibende Feststoff zweimal mit Hexan gewaschen. Das Produkt wurde im Vakuum (0,001 Torr) getrocknet (Ausbeute: 81%). Cholesteryl-3-hydroxy-bisphosphonsäure: MS: Molekülion m/z 561 $[M+H]^+$; ^{31}P -NMR δ = 21.6 ppm.

Beispiel 2: Leerliposomen bestehend aus Dodecan-bisphosphonsäure

Liposomen enthaltend Soja-Phosphatidylcholin, Cholesterol, Palmityl-D-glucuronid und Dodecanbisphosphonsäure in einem molaren Verhältnis von 1,0:0,3:0,1:0,1 (100 mg/ml) wurden mit Ultraschall hergestellt. Der Teilchendurchmesser betrug 120 ± 40 nm. Er wurde durch Photonenkorrelationsspektroskopie (light scattering) bestimmt.

Beispiel 3: Leerliposomen bestehend aus Palmitylbisphosphonsäure

Liposomen enthaltend Soja-Phosphatidylcholin, Phosphatidylglycerol, Palmityl-D-glucuronid und Palmitylbisphosphonsäure in einem molaren Verhältnis von 1,0:0,2:0,1:0,1 (100 mg/ml) wurden mit Ultraschall hergestellt. Der Teilchendurchmesser betrug 120 ± 40 nm. Er wurde durch Photonenkorrelationsspektroskopie (light scattering) ermittelt.

Beispiel 4: Leerliposomen bestehend aus Cholesteryl-3-hydroxy-bisphosphonsäure

Liposomen enthaltend Soja-Phosphatidylcholin, Cholesterol, Palmityl-D-glucuronid und Cholesteryl-3-hydroxy-bisphosphonsäure in einem molaren Verhältnis von 0,5:0,14:0,05:0,03 (50 mg/ml) wurden mit Ultraschall und Hochdruckfiltration hergestellt. Der Teilchendurchmesser betrug 120 ± 40 nm. Er wurde durch Photonenkorrelationsspektroskopie (light scattering) ermittelt.

Beispiel 5: Cholesterylbisphosphonsäuren mit Oxyethylen-Bausteinen als „Spacer“, zwischen Steroid und Säurefunktion.

Alle verwendeten Lösungsmittel wurden sorgfältig getrocknet, die Diole (Ethylenglykol, Triethylenglykol) über Calciumhydrid destilliert und die Reaktionen in einer Atmosphäre von trockenem Stickstoff durchgeführt.

1. Cholesteryl-toluol-*p*-sulfonat

Zu einer Lösung von 30 g (77.6 mmol) Cholesterin in 250 ml Pyridin, wurden 22.2 g (116.4 mmol) Toluol-*p*-sulfonylchlorid gegeben. Die Reaktionsmischung wurde für 24 h bei Raumtemperatur gerührt und anschließend 200 ml Eiswasser langsam dazugegeben. Der gelbliche Niederschlag wurde filtriert, mit Ethanol gewaschen (3×70 ml). Das Produkt war ein weißes Pulver in 95% Ausbeute (39.9 g).

2. Cholesteryl-hydroxyethylether

Eine Lösung von 1 mmol Cholesteryl-toluene-*p*-sulfonate und 200 mmol von Ethylen- oder Triethylenglykol in Dioxan wurde während 2.5 h zum Sieden erhitzt. Nach dem Abpumpen des Lösungsmittels im Vakuum wurde das verbleibende Öl in Diethylether aufgenommen und mit Wasser gewaschen. Die organische Phase wurde mit Magnesiumsulfat getrocknet, dann abfiltriert und das Lösungsmittel abgezogen. Im Falle von **Cholesteryl-hydroxyethylether** wurde der feste Rückstand mit Hexan gewaschen. Es verblieb ein weißes Pulver in 86% Ausbeute. Im Falle von **Cholesteryl-3,6-dioxaoctan-1-ol** war eine Reinigung über Silicagel notwendig. Gelbe Verunreinigungen wurden mit Hexan ausgewaschen. Das Produkt wurde mit einem (90/10) Dichloromethan-Methanol-Gemisch eluiert und die Lösungsmittel im Vakuum abgepumpt. Der Rückstand war das gewünschte Produkt in 74% Ausbeute.

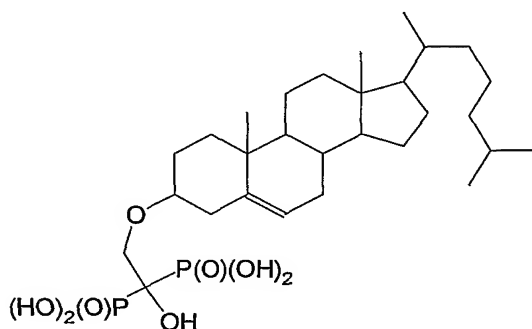
3. Cholesteryloxyethyl-Carbonsäuren

1.1 mmol *n*BuLi (1.4 M Lösung in Hexan) wurde zu einer Lösung von **Cholesterin** sowie der **Hydroxyethylether** (siehe 2) in THF bei -78°C gegeben, die Reaktionsmischung 10 min. gerührt und mit einem zweifachen Überschuß von Lithiumbromacetat versetzt. Nach 20 min. wurde auf Raumtemperatur erwärmt. Nach 16 h bei Raumtemperatur wurde die Mischung für 3 h auf 60°C gehalten. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt, Diethylether wurde dazugegeben und die organische Phase mehrere Male mit Wasser gewaschen, und im Vakuum getrocknet. **2-(Cholesteryloxy)essigsäure**⁵ wurde in 85% Ausbeute isoliert, **[2-(Cholesteryloxy)ethoxy]essigsäure** in 60% Ausbeute nach Umkristallisation aus Hexan;

{2-[(Cholesteryl-3,6-dioxaoctan-1-ol)oxy]ethoxy}essigsäure wurde in 70% Ausbeute isoliert, indem eine Lösung des Rohprodukts in einer (1/1) Ether/Pentan-Gemisch durch eine Säule mit Silicagel geschickt und dann mit einem (5/1) Dichloromethan/Methanol-Gemisch eluiert wurde.

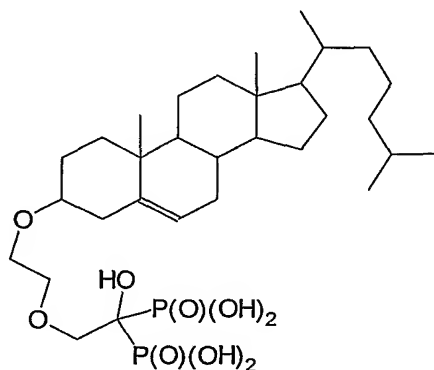
4. Synthese der entsprechenden Bisphosphonsäuren

Die Carbonsäuren aus 3 wurden in Dichloromethan mittels Oxalylchlorid in die Säurechloride überführt, die dann ohne weitere Reinigung mit Tris(trimethylsilyl)phosphit in Ether umgesetzt wurden, gefolgt von der sauren Hydrolyse der entstehenden trimethylsilylierten Bisphosphonsäureester, die zu den gewünschten freien Bisphosphonsäuren in 80-95% Ausbeute führte.



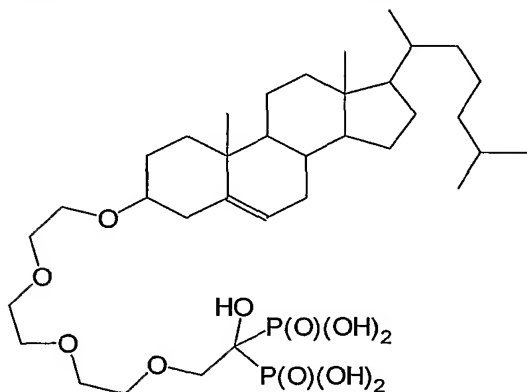
aus 2-(Cholesteryl-3,6-dioxaoctan-1-ol)oxyessigsäure

2-(2,3,4,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17-tetradecahydro-10,13-dimethyl-17-(6-methylheptan-2-yl)-1H-cyclopenta[a]phenanthren-3-yloxy)-1-hydroxy-1-phosphonoethoxyphosphonsäure;
 $C_{29}H_{52}O_8P_2$ (590.31); NMR: 1H (DMSO- d_6): 0.3-2.7 ppm (m, 43 H), 3.3 ppm (1 H), 4.2 ppm (m, 2 H), 5.4 ppm (breit, 1 H), 10.2 ppm (breit, 5H); ^{31}P (DMSO- d_6): 18.8 ppm (t, $J = 11.99$ Hz).



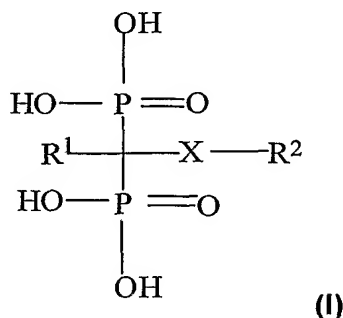
aus [2-(Cholesteryl-3,6-dioxaoctan-1-ol)oxy]essigsäure

2-(2-(2,3,4,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17-tetradecahydro-10,13-dimethyl-17-(6-methylheptan-2-yl)-1H-cyclopenta[a]phenanthren-3-yloxy)ethoxy)-1-hydroxy-1-phosphono)ethylphosphonsäure; $C_{31}H_{56}O_9P_2$ (634.3); NMR: 1H (DMSO- d_6): 0.59-2.53 ppm (m, 43 H), 3.28 ppm (m, 1 H), 3.72 ppm (m, 4 H), 4.17 ppm (m, 2 H), 5.37 ppm (m, 1 H), 10.4 ppm (breit, 5 H); ^{31}P (DMSO- d_6): 20.1 ppm (t, $J = 13.87$ Hz).



aus {2-[(Cholesteryl-3,6-dioxaocetan-1-ol)oxy]ethoxy}essigsäure

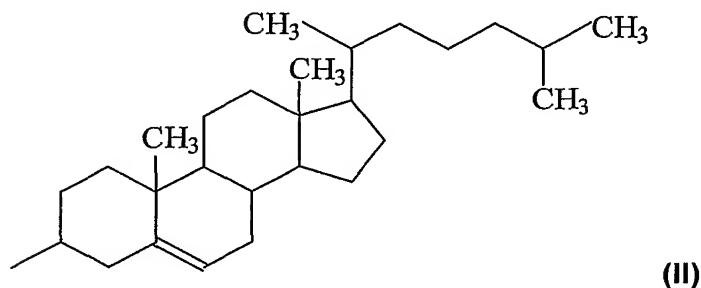
2-(2-(2-(2-(2,3,4,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17-tetradecahydro-10,13-dimethyl-17-(6-methylheptan-2-yl)-1H-cyclopenta[a]phenanthren-3-yloxy)ethoxy)ethoxy)ethoxy)-1-hydroxy-1-phosphono)ethylphosphonsäure; $C_{35}H_{64}O_{11}P_2$ (722.39); NMR: 1H (DMSO- d_6): 0.20-2.39 ppm (m, 43 H), 3.3 ppm (m, 1 H), 3.49 ppm (m, 12H), 5.28 ppm (breit, 1 H), 3.82 ppm (t, 2 H, $J = 10.99$ Hz), 10.8 ppm (breit, 5 H); ^{31}P (DMSO- d_6) 18.8 ppm (t, $J = 10.9$ Hz).

Patentansprüche**1. Bisphosphonsäure mit der allgemeinen Formel (I)**

worin R^1 ist H, OH, $\text{C}_1\text{-C}_6\text{-Alkyl}$, $\text{C}_1\text{-C}_6\text{-Alkoxy}$, $\text{C}_1\text{-C}_6\text{-Hydroxyalkyl}$, $\text{C}_1\text{-C}_6\text{-Aminoalkyl}$, $\text{C}_1\text{-C}_6\text{-Halogenalkyl}$ ist,

X ist eine direkte Bindung, Alkylengruppe mit 1 bis 20 Kohlenstoffatomen, $(\text{CH}_3)_m\text{-(OCR}^3\text{HCH}_2)_n\text{-(O)}_o\text{-}$, worin R^3 H oder CH_3 bedeutet und m für 0 oder eine Zahl von 1 bis 6, n für eine Zahl von 1 bis 10, insbesondere 1 bis 6 und o für 0 oder 1 steht, $\text{-(CR}^4\text{HCH}_2\text{O)}_p\text{-}$, R^4 H oder CH_3 bedeutet, p für eine Zahl von 1 bis 10, insbesondere 1 bis 6, steht, $(\text{CH}_3)_q\text{-(OCR}^5\text{HCH}_2)_r\text{-(O)}_s\text{-(CH}_3)_t\text{-}$, worin R^5 H oder CH_3 bedeutet, und q für 0 oder eine Zahl von 1 bis 6, r für eine Zahl von 1 bis 10, insbesondere 1 bis 6 und s für 0 oder 1 und t für eine Zahl von 1 bis 6 steht,

R^2 ein Rest mit der Formel (II) ist



oder ein Fettalkylrest oder Fettsäurerest mit 8 bis 22 Kohlenstoffatomen, sowie deren physiologisch annehmbaren Derivate, insbesondere Salze und Trimethylsilylderivate.

2. Bisphosphonsäure nach Anspruch 1, worin R^1 OH ist und R^2 ein Rest ist, der der allgemeinen Formel (II) entspricht.
3. Verwendung der Bisphosphonsäuren nach Anspruch 1 als Chelat-Komplexbildner oder Transportmittel für di- und trivalente Metallionen in technischen und industriellen Anwendungen, als Korrosionsschutzmittel in technischen und industriellen Anwendungen, als pharmazeutischer Wirkstoff, als Hilfsmittel für den Wirkstofftransport oder als Diagnostikum.
4. Verwendung nach Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet, dass die Verbindung mit der allgemeinen Formel (I) an ein aktives Agens oder an ein Diagnostikum gebunden ist.
5. Verwendung nach Anspruch 3 oder 4, dadurch gekennzeichnet, dass das aktive Agens oder das Diagnostikum ausgewählt ist aus Krebstherapeutika, Virustatika, Antibiotika, antimykotische, antiinflammatorische, das Knochengewebe stimulierende oder das Knochengewebe unterdrückende Substanzen.
6. Verwendung nach einem der Ansprüche 3 bis 5 in Kombination mit oder als Bestandteil von Liposomen, Nanopartikeln, Nanospheres, Nanokapseln, Mizellen oder Polymersystemen.
7. Verfahren zur Herstellung der Verbindungen mit der Formel I, in welchem eine Verbindung mit der Formel III, R^2 -X-COOH oder ein reaktives Derivat davon in an sich bekannter Weise mit der Bisphosphonsäure oder Tris(trimethylsilyl)phosphit umgesetzt und das erhaltene Produkte direkt isoliert oder durch Hydrolyse in die frei Phosphonsäure überführt wird.
8. Liposomale Zusammensetzung enthaltend eine Verbindung mit der allgemeinen Formel I, Phospholipide und/oder einem Uronsäure-Derivat.
9. Liposomale Zusammensetzung nach Anspruch 8, dadurch gekennzeichnet, dass das als Uronsäurederivate Palmityl-D-glucuronid und/oder Galactosyl-D-glucuronid in Konzentrationen von 0,1 bis 25 mol% enthalten sind.

10. Liposomale Zusammensetzung nach Anspruch 8 oder 9, dadurch gekennzeichnet, dass die Phospholipie ausgewählt sind aus Phosphatidylcholin, Phosphatidylglycerol, Phosphatidylethanolamin, Phosphatidylinositol, Phosphatidylsäure, Sphingomyelin, Ceramid in ihren natürlichen, halbsynthetischen oder synthetischen Formen sowie Stearylamin und Cholesterol.
11. Liposomale Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 8 bis 10, dadurch gekennzeichnet, dass sie als wässrige Dispersion oder als Lyophilisat vorliegt.
12. Verfahren zur Herstellung einer liposomalen Zubereitung nach den Ansprüchen 8 bis 11, worin eine Rohmischung der einzelnen Bestandteile, wie Palmityl-D-glucuronid, Phospholipiden, Bisphosphonsäure(n) oder ein Derivat davon mit der allgemeinen Formel (I) und beliebige einzelne oder Kombinationen von aktiven Substanzen durch Ultraschall, Hochdruckextrusion, oder Hochdruckhomogenisation miteinander vermischt werden.
13. Verwendung einer liposomalen Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 8 bis 11 zur Herstellung eines Medikaments zur Behandlung von Human- und Tierkrankheiten.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/DE2005/000095

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 C07J51/00 A61K31/575 A61P39/04 C23F11/167 A61K9/127

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 C07J A61K A61P C23F

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, CHEM ABS Data, BEILSTEIN Data, PAJ, WPI Data, MEDLINE, BIOSIS, EMBASE

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 97/39004 A (LOVESGROVE RESEARCH LIMITED; GARNETT, DAVID, JOHN) 23 October 1997 (1997-10-23)	1,3,6-8, 10-13
Y	page 1, paragraph 1; examples 1,2,4,8	1-13
X	WO 86/00902 A (LEO PHARMACEUTICAL PRODUCTS LTD. A/S) 13 February 1986 (1986-02-13)	1,3
Y	page 3, lines 12-30 page 11, line 16 page 24, line 19; claim 1	1-13
	----- -/-	

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents :

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier document but published on or after the international filing date
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- *&* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

7 April 2005

Date of mailing of the international search report

26/04/2005

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Watchorn, P

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/DE2005/000095

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category °	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	SZAJNMAN SERGIO H ET AL: "Bisphosphonates derived from fatty acids are potent inhibitors of Trypanosoma cruzi farnesyl pyrophosphate synthase." BIOORGANIC & MEDICINAL CHEMISTRY LETTERS, vol. 13, no. 19, 6 October 2003 (2003-10-06), pages 3231-3235, XP002323677 ISSN: 0960-894X	1,3
Y	page 3232, column 2; figure 2; compounds 8-10 page 3233, column 1; tables 1-3; compound 30 32 34	1-13
X	----- HSU, M.-T. ET AL: "Inhibition of streptococcal growth, F-ATPase and pyrophosphatase by diphosphonates" ORAL MICROBIOLOGY AND IMMUNOLOGY , 10(1), 47-53 CODEN: OMIMEE; ISSN: 0902-0055, 1995, XP008045394	1,3
Y	page 48; figure 1; compound DHDP page 51; figure 8 page 52, column 2, paragraph 1	1-13
X	----- HIROZAWA, STANLEY T.: "Use of electrochemical noise in the study of corrosion inhibition of aluminum by gem-diphosphonates" ANNALI DELL'UNIVERSITA DI FERRARA, SEZIONE 5: CHIMICA PURA ED APPLICATA, SUPPLEMENTO , 10(8TH EUROPEAN SYMPOSIUM ON CORROSION INHIBITORS, 1995, VOL. 1), 25-33 CODEN: AUFSAH; ISSN: 0365-785X, 1995, XP008045407 page 26, paragraph 1 page 27; figures 1-3 page 31; figure 12	1,3
X	----- DATABASE CA 'Online! CHEMICAL ABSTRACTS SERVICE, COLUMBUS, OHIO, US; PALADINI, M.: "Inhibition of metal catalysis in oil oxidation" XP002323678 retrieved from STN Database accession no. 1991:447975	1,3
Y	abstract & RIVISTA ITALIANA DELLE SOSTANZE GRASSE , 66(6), 335-40 CODEN: RISGAD; ISSN: 0035-6808, 1989, ----- -/--	1-13

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/DE2005/000095

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	DATABASE CA 'Online! CHEMICAL ABSTRACTS SERVICE, COLUMBUS, OHIO, US; ONDA, AKIO ET AL: "Manufacture of long fibers from plants including treatment by alkaline substances and hydrogen peroxide" XP002323679 retrieved from STN Database accession no. 1996:620880	1,3
Y	abstract & JP 08 199420 A2 (JAPAN) 6 August 1996 (1996-08-06)	1-13
X	EP 0 555 845 A (MITSUBISHI KASEI CORPORATION) 18 August 1993 (1993-08-18) page 1, paragraph 4 page 20; compound 98	4-6
Y	WO 97/49711 A (BOEHRINGER MANNHEIM ITALIA S.P.A; LIVI, VALERIA; D'ALO', SIMONETTA; SP) 31 December 1997 (1997-12-31) page 16, paragraph 2; examples 5,10	4-6
Y	US 4 942 036 A (GEHO ET AL) 17 July 1990 (1990-07-17) das ganze Dokument, insbesondere Abbildung 1	1-13

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/DE2005/000095

Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

Although claims 3-6 relate to a method for treatment of the human or animal body, the search was carried out on the basis of the alleged effects of the compound or composition.
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/DE2005/000095

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9739004	A	23-10-1997	BR 9708660 A CN 1218477 A EP 0892806 A1 GB 2311991 A ,B WO 9739004 A1 GB 2323089 A ,B NO 984671 A	04-01-2000 02-06-1999 27-01-1999 15-10-1997 23-10-1997 16-09-1998 04-12-1998
WO 8600902	A	13-02-1986	AT 50262 T AU 583848 B2 AU 4673685 A DE 3575929 D1 DK 147386 A WO 8600902 A1 EP 0191044 A1 ES 8707964 A1 FI 861357 A GR 851865 A1 IE 58614 B1 JP 6008303 B JP 61503034 T PT 80886 A ,B US 4732998 A ZA 8505264 A	15-02-1990 11-05-1989 25-02-1986 15-03-1990 01-04-1986 13-02-1986 20-08-1986 16-11-1987 27-03-1986 02-12-1985 20-10-1993 02-02-1994 25-12-1986 01-08-1985 22-03-1988 26-03-1986
JP 8199420	A2	06-08-1996	JP 8199420 A	06-08-1996
EP 0555845	A	18-08-1993	CA 2089194 A1 EP 0555845 A2 JP 2746041 B2 JP 5286993 A US 5391776 A	15-08-1993 18-08-1993 28-04-1998 02-11-1993 21-02-1995
WO 9749711	A	31-12-1997	IT MI961290 A1 AU 3260897 A WO 9749711 A1	29-12-1997 14-01-1998 31-12-1997
US 4942036	A	17-07-1990	NONE	

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen
PCT/DE2005/000095

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES IPK 7 C07J51/00 A61K31/575 A61P39/04 C23F11/167 A61K9/127		
Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK		
B. RECHERCHIERTE GEBIETE Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole) IPK 7 C07J A61K A61P C23F		
Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen		
Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe) EPO-Internal, CHEM ABS Data, BEILSTEIN Data, PAJ, WPI Data, MEDLINE, BIOSIS, EMBASE		
C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	WO 97/39004 A (LOVESGROVE RESEARCH LIMITED; GARNETT, DAVID, JOHN) 23. Oktober 1997 (1997-10-23)	1,3,6-8, 10-13
Y	Seite 1, Absatz 1; Beispiele 1,2,4,8 -----	1-13
X	WO 86/00902 A (LEO PHARMACEUTICAL PRODUCTS LTD. A/S) 13. Februar 1986 (1986-02-13)	1,3
Y	Seite 3, Zeilen 12-30 Seite 11, Zeile 16 Seite 24, Zeile 19; Anspruch 1 ----- --/--	1-13
<div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <div> <input checked="" type="checkbox"/> Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen </div> <div> <input checked="" type="checkbox"/> Siehe Anhang Patentfamilie </div> </div>		
<div style="display: flex;"> <div style="flex: 1;"> <p>* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :</p> <p>*A* Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist</p> <p>*E* älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist</p> <p>*L* Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)</p> <p>*O* Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht</p> <p>*P* Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist</p> </div> <div style="flex: 1;"> <p>*T* Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist</p> <p>*X* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden</p> <p>*Y* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist</p> <p>*Z* Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist</p> </div> </div>		
Datum des Abschlusses der internationalen Recherche <div style="text-align: center;">7. April 2005</div>		Absendedatum des internationalen Recherchenberichts <div style="text-align: center;">26/04/2005</div>
Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016		Bevollmächtigter Bediensteter <div style="text-align: center;">Watchorn, P</div>

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	SZAJNMAN SERGIO H ET AL: "Bisphosphonates derived from fatty acids are potent inhibitors of Trypanosoma cruzi farnesyl pyrophosphate synthase." BIOORGANIC & MEDICINAL CHEMISTRY LETTERS, Bd. 13, Nr. 19, 6. Oktober 2003 (2003-10-06), Seiten 3231-3235, XP002323677 ISSN: 0960-894X	1,3
Y	Seite 3232, Spalte 2; Abbildung 2; Verbindungen 8-10 Seite 3233, Spalte 1; Tabellen 1-3; Verbindung 30 32 34	1-13
X	----- HSU, M.-T. ET AL: "Inhibition of streptococcal growth, F-ATPase and pyrophosphatase by diphosphonates" ORAL MICROBIOLOGY AND IMMUNOLOGY, 10(1), 47-53 CODEN: OMIMEE; ISSN: 0902-0055, 1995, XP008045394	1,3
Y	Seite 48; Abbildung 1; Verbindung DHDP Seite 51; Abbildung 8 Seite 52, Spalte 2, Absatz 1	1-13
X	----- HIROZAWA, STANLEY T.: "Use of electrochemical noise in the study of corrosion inhibition of aluminum by gem-diphosphonates" ANNALI DELL'UNIVERSITA DI FERRARA, SEZIONE 5: CHIMICA PURA ED APPLICATA, SUPPLEMENTO, 10(8TH EUROPEAN SYMPOSIUM ON CORROSION INHIBITORS, 1995, VOL. 1), 25-33 CODEN: AUFSAH; ISSN: 0365-785X, 1995, XP008045407 Seite 26, Absatz 1 Seite 27; Abbildungen 1-3 Seite 31; Abbildung 12	1,3
X	----- DATABASE CA 'Online! CHEMICAL ABSTRACTS SERVICE, COLUMBUS, OHIO, US; PALADINI, M.: "Inhibition of metal catalysis in oil oxidation" XP002323678 gefunden im STN Database accession no. 1991:447975	1,3
Y	Zusammenfassung & RIVISTA ITALIANA DELLE SOSTANZE GRASSE, 66(6), 335-40 CODEN: RISGAD; ISSN: 0035-6808, 1989,	1-13
	----- -/--	

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	DATABASE CA 'Online! CHEMICAL ABSTRACTS SERVICE, COLUMBUS, OHIO, US; ONDA, AKIO ET AL: "Manufacture of long fibers from plants including treatment by alkaline substances and hydrogen peroxide" XP002323679 gefunden im STN Database accession no. 1996:620880	1,3
Y	Zusammenfassung & JP 08 199420 A2 (JAPAN) 6. August 1996 (1996-08-06) -----	1-13
X	EP 0 555 845 A (MITSUBISHI KASEI CORPORATION) 18. August 1993 (1993-08-18) Seite 1, Absatz 4 Seite 20; Verbindung 98 -----	4-6
Y	WO 97/49711 A (BOEHRINGER MANNHEIM ITALIA S.P.A; LIVI, VALERIA; D'ALO', SIMONETTA; SP) 31. Dezember 1997 (1997-12-31) Seite 16, Absatz 2; Beispiele 5,10 -----	4-6
Y	US 4 942 036 A (GEHO ET AL) 17. Juli 1990 (1990-07-17) das ganze Dokument, insbesondere Abbildung 1 -----	1-13

Feld II Bemerkungen zu den Ansprüchen, die sich als nicht recherchierbar erwiesen haben (Fortsetzung von Punkt 2 auf Blatt 1)

Gemäß Artikel 17(2)a) wurde aus folgenden Gründen für bestimmte Ansprüche kein Recherchenbericht erstellt:

1. ☒ Ansprüche Nr.
weil sie sich auf Gegenstände beziehen, zu deren Recherche die Behörde nicht verpflichtet ist, nämlich
Obwohl die Ansprüche 3-6 sich auf ein Verfahren zur Behandlung des menschlichen/tierischen Körpers beziehen, wurde die Recherche durchgeführt und gründete sich auf die angeführten Wirkungen der Verbindung/Zusammensetzung.
2. ☐ Ansprüche Nr.
weil sie sich auf Teile der internationalen Anmeldung beziehen, die den vorgeschriebenen Anforderungen so wenig entsprechen, daß eine sinnvolle internationale Recherche nicht durchgeführt werden kann, nämlich
3. ☐ Ansprüche Nr.
weil es sich dabei um abhängige Ansprüche handelt, die nicht entsprechend Satz 2 und 3 der Regel 6.4 a) abgefaßt sind.

Feld III Bemerkungen bei mangelnder Einheitlichkeit der Erfindung (Fortsetzung von Punkt 3 auf Blatt 1)

Die Internationale Recherchenbehörde hat festgestellt, daß diese internationale Anmeldung mehrere Erfindungen enthält:

1. ☐ Da der Anmelder alle erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht auf alle recherchierbaren Ansprüche.
2. ☐ Da für alle recherchierbaren Ansprüche die Recherche ohne einen Arbeitsaufwand durchgeführt werden konnte, der eine zusätzliche Recherchegebühr gerechtfertigt hätte, hat die Behörde nicht zur Zahlung einer solchen Gebühr aufgefordert.
3. ☐ Da der Anmelder nur einige der erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht nur auf die Ansprüche, für die Gebühren entrichtet worden sind, nämlich auf die Ansprüche Nr.
4. ☐ Der Anmelder hat die erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren nicht rechtzeitig entrichtet. Der internationale Recherchenbericht beschränkt sich daher auf die in den Ansprüchen zuerst erwähnte Erfindung; diese ist in folgenden Ansprüchen erfaßt:

Bemerkungen hinsichtlich eines Widerspruchs☐ Die zusätzlichen Gebühren wurden vom Anmelder unter Widerspruch gezahlt.☐ Die Zahlung zusätzlicher Recherchegebühren erfolgte ohne Widerspruch.

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/DE2005/000095

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
WO 9739004 A	23-10-1997	BR 9708660 A	04-01-2000
		CN 1218477 A	02-06-1999
		EP 0892806 A1	27-01-1999
		GB 2311991 A ,B	15-10-1997
		WO 9739004 A1	23-10-1997
		GB 2323089 A ,B	16-09-1998
		NO 984671 A	04-12-1998
WO 8600902 A	13-02-1986	AT 50262 T	15-02-1990
		AU 583848 B2	11-05-1989
		AU 4673685 A	25-02-1986
		DE 3575929 D1	15-03-1990
		DK 147386 A	01-04-1986
		WO 8600902 A1	13-02-1986
		EP 0191044 A1	20-08-1986
		ES 8707964 A1	16-11-1987
		FI 861357 A	27-03-1986
		GR 851865 A1	02-12-1985
		IE 58614 B1	20-10-1993
		JP 6008303 B	02-02-1994
		JP 61503034 T	25-12-1986
		PT 80886 A ,B	01-08-1985
		US 4732998 A	22-03-1988
		ZA 8505264 A	26-03-1986
JP 8199420 A2	06-08-1996	JP 8199420 A	06-08-1996
EP 0555845 A	18-08-1993	CA 2089194 A1	15-08-1993
		EP 0555845 A2	18-08-1993
		JP 2746041 B2	28-04-1998
		JP 5286993 A	02-11-1993
		US 5391776 A	21-02-1995
WO 9749711 A	31-12-1997	IT MI961290 A1	29-12-1997
		AU 3260897 A	14-01-1998
		WO 9749711 A1	31-12-1997
US 4942036 A	17-07-1990	KEINE	